

VALIDASI METODE PENENTUAN KADAR ASAM HUMAT DENGAN PENAMBAHAN NaHCO_3 MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER ULTRA-VIOLET

Neng Dahniarti^{1*}, Lia Destiarti¹, Nora Idiawati¹

¹Progam Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jln. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi 78124, Pontianak
email: dahniarti15@gmail.com

ABSTRAK

Asam humat mudah didapatkan karena keberadaannya dalam tanah gambut yang hampir 70-80% terdiri senyawa humat, untuk mendapatkan senyawa humat dapat dilakukan dengan metode ekstraksi dan validasi metode analisis penentuan kadar asam humat. Penentuan kadar asam humat dilakukan dengan pelarut NaHCO_3 dan NaOH dan tanpa penambahan NaHCO_3 pada pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer ultra violet. Validasi metode analisis penentuan kadar asam humat menggunakan spektrofotometer ultra violet dengan beberapa parameter uji akurasi, presisi, batas deteksi dan batas kuantitasi dan dilakukan uji-t untuk melihat hasil yang didapatkan dari pengukuran kadar sampel asam humat tersebut berbeda signifikan atau tidak. Hasil analisis berdasarkan kurva kalibrasi standar asam humat dengan konsentrasi 2, 3, 4, 5 dan 6 mg/L pada penambahan NaHCO_3 dan NaOH adalah akurasi 5,56%-40,6%, presisi 0,29%-13%, batas deteksi 1,6 mg/l, batas kuantitasi 5,3 mg/l, linieritas 0,1626x dan koefisien korelasi 0,9933. Sedangkan tanpa penambahan NaHCO_3 adalah akurasi 2,0%-19,8%, presisi 4,3%-17%, batas deteksi 0,7 mg/L, batas kuantitasi 2,5 mg/L, Linieritas 0,1453x dan koefisien korelasi 0,9672. Kadar asam humat yang didapatkan yaitu 5,5 mg/L dan 2,0 mg/L. Berdasarkan hasil uji-t didapatkan bahwa H_0 ditolak, berarti berbeda signifikan antara sampel asam humat dengan penambahan NaHCO_3 dan NaOH dan tanpa penambahan NaHCO_3 . Hasil Penentuan kadar sampel asam humat setelah dilakukan validasi metode dengan menggunakan beberapa parameter uji menunjukkan bahwa asam humat dengan penambahan NaHCO_3 + NaOH lebih memenuhi batas uji validasi dengan kadar yang didapatkan yaitu 5,5 ppm.

Kata kunci : asam humat, kalibrasi standar, validasi

PENDAHULUAN

Senyawa humat ini sangat berperan pada sejumlah aktivitas kimia dalam tanah dengan berpengaruh dalam pertumbuhan tanaman. Senyawa humat terdiri dari asam humat, asam fulvat dan humin, asam humat yang secara tidak langsung memiliki fungsi sebagai berikut yaitu memperbaiki kesuburan tanah, meningkatkan pertumbuhan, mengkatalisa reaksi enzimatik, sebagai absorben logam-logam berat, penentuan rasio E_4/E_6 mengetahui jumlah senyawa organik dan memiliki sifat sebagai antioksidan dan antimikroba. Oleh karena kegunaan asam humat yang sangat banyak, sehingga perlu dilakukan penentuan kadar asam humat dalam tanah gambut tersebut dengan menggunakan spektrofotometer ultra violet. Asam humat

dari tanah gambut didapatkan dengan cara mengekstraksi tanah gambut dengan menggunakan NaOH untuk mendapatkan senyawa humat sebesar 80% (Purwanto, 1999).

Penetapan kadar suatu senyawa kimia dapat dilakukan secara analisis instrumental menggunakan spektrofotometer ultra violet dan keuntungan metode spektrofotometri ultra violet yaitu lebih mudah, cepat dan spesifik untuk analisis zat uji (Mulja dan Suharman, 1995; Hahne, 2002). Penentuan kadar asam humat secara spektrofotometer ultra violet dilakukan dengan menambahkan NaHCO_3 dan NaOH . Beberapa penelitian menggunakan NaHCO_3 dan NaOH digunakan untuk membantu melarutkan asam humat.

Penelitian ini dilakukan agar mendapatkan metode penentuan kadar

asam humat menggunakan spektrofotometer ultra violet. Penentuan kadar asam humat dengan metode ini belum pernah dilakukan, sehingga sebelum diaplikasikan metode ini harus divalidasi terlebih dahulu. Parameter uji yang digunakan antara lain akurasi, presisi, batas deteksi, batas kuantitasi dan linieritas. Selanjutnya dilakukan uji-t untuk melihat apakah hasil yang didapatkan pada asam humat yang ditambahkan dengan NaHCO_3 dan tanpa NaHCO_3 berbeda signifikan atau tidak.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah, ayakan 120 mesh, botol sampel, kapas, kertas saring whatman no 1, neraca analitik, peralatan gelas standar, pH universal (jerman merk), oven, shaker, spektrofotometer uv-visible (cary 100), sentrifuse (Plc Series) dan FTIR frestige-21 (Shimadzu).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah akuades, asam humat standar (*humic acid sodium salt sigma aldrich lot:sttb4456*), asam klorida (HCl), natrium bikarbonat (NaHCO_3), natrium hidroksida (NaOH), perak nitrat (AgNO_3) dan sampel tanah gambut didaerah Sepakat II Desa Bansir Laut Kecamatan Pontianak Tenggara Provinsi Kalimantan Barat Kalimantan barat.

Cara Kerja

Validasi Metode Spektrofotometri UV-Vis Uji Akurasi (Harmita, 2004)

Akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis yang didapatkan dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) dari analit yang ditambahkan, dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Akurasi d(\%)} = \left| \frac{\mu - x}{\mu} \right| \times 100$$

Dimana : x = konsentrasi standar

μ = konsentrasi standar terukur

Uji Presisi (Harmita, 2004)

Presisi adalah ukuran kedekatan nilai data satu dengan yang lainnya dalam suatu pengukuran pada kondisi analisis yang sama. Uji presisi

(keseksamaan) ditentukan dengan parameter RSD (Relative Standard Deviasi) dengan rumus (Harmita, 2004):

$$\text{RSD \%} = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Dimana :

RSD = Relative Standar Deviasi

SD = Standar Deviasi

X = Kadar merkuri yang terukur

\bar{X} = Kadar rata – rata merkuri dalam sampel

n = Perlakuan

Uji Linieritas (Harmita, 2004; Chan, 2004)

Hasil yang didapatkan kemudian dilakukan uji intersep dengan menggunakan persamaan garis yaitu dengan uji statistik regresi linear dengan menguji rentang kepercayaan intersep untuk melihat ada atau tidaknya bias sistematis. Persamaan ini akan menghasilkan koefisien korelasi (*r*). Koefisien korelasi inilah yang digunakan untuk mengetahui linearitas suatu metode analisis. Penetapan linearitas minimum menggunakan lima konsentrasi yang berbeda, dimana pada penelitian ini lima konsentrasi tersebut adalah 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm. Preparasi menggunakan validasi metode analisis ini dilakukan sebanyak 3 kali untuk semua perlakuannya.

Uji Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi (Harmita, 2004).

Untuk menentukan batas deteksi (batas deteksi) dan batas kuantitasi (batas kuantitasi) dapat digunakan rumus (Harmita, 2004) :

$$BD = Y_b + 3S_b$$

$$LK = Y_b + 10S_b$$

$$S_b = \sqrt{\frac{\sum (Y - Y_i)^2}{n-2}}$$

Dimana

S_b = Simpangan Baku

BD = Batas Deteksi

LK = Batas Kuantitasi

Y = Absorbansi yang terbaca

Y_i = Absorbansi yang sudah dimasukkan ke persamaan

Y_b = Nilai intersep (a) dari persamaan

n = Perlakuan

Preparasi Sampel Asam Humat Tanah Gambut (IHSS; Sudiono, 2004)

Sampel tanah gambut yang digunakan dalam penelitian diambil dari lapisan tanah paling atas kurang lebih 10-50 cm yang berwarna paling gelap yang menunjukkan kandungan senyawa organik yang tinggi. Tanah gambut dibersihkan dari pengotor yang tampak, dicuci dengan HCl encer 0,1 M untuk menghilangkan kapur dan disaring untuk memisahkan pasir (Sudiono, 2004) didapatkan sebanyak 7,4 kg. Sampel tanah gambut yang diperoleh dikeringanginkan dan dibersihkan dari sisa-sisa akar maupun tanaman diperoleh 1,2 kg, selanjutnya tanah gambut yang sudah kering dihaluskan dan disaring dengan ayakan 200 mesh diperoleh sebanyak 250 gram.

Isolasi Asam Humat dari Tanah Gambut (IHSS; Sudiono, 2004)

Isolasi asam humat dari tanah gambut menggunakan prosedur IHSS (*Internatinal Humic Substance Society*). Sebanyak 200 gram tanah gambut kering halus diekstraksi dengan 2 L NaOH 0,1 M dikocok selama ± 2 jam dan didiamkan selama 24 jam. Supernatan dipisahkan dari residu tanah dengan sentrifugasi menggunakan kekuatan 4.000 rpm selama 15 menit yang kemudian disaring dengan menggunakan pompa vakum. Supernatant berupa residu dan filtrate, dimana filtrat dikumpulkan dan dibersihkan lagi dengan cara sentrifugasi pada 4.000 rpm selama 15 menit, kemudian disaring kembali dengan pompa vakum menggunakan kertas saring whatman.

Filtrat hasil saringan yang terkumpul mengandung asam fulvat dan asam humat sebanyak 780 mL, dan kedua senyawa asam ini dipisahkan dengan mengasamkan supernatan tersebut dengan HCl 6 M hingga pH 1, dikocok selama ± 2 jam dan didiamkan selama 24 jam yang didapat filtrat dan residu. pH awal filtrate 10,9 menjadi 1,08. Fraksi yang mengendap adalah asam humat, sedangkan larutan yang tertinggal mengandung asam fulvat dan asam-asam organik lainnya. Pemisahan antara supernatan dan asam humat dilakukan dengan sentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit, residu yang diperoleh sebanyak 432,21 gram.

Pemurnian Asam Humat (IHSS; Sudiono, 2004)

Asam humat dipisahkan dari supernatan dengan cara sentrifugasi. Pemurnian asam humat dilakukan dengan diambil endapan asam humat (residu) diambil 432,1 gram dimurnikan dengan melarutkan kedalam 500 mL NaOH 0,3 M yang disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 4.000 rpm dan disaring. Selanjutnya pengendapan dalam larutan HCl pH=1, dikocok selama ± 2 jam dengan kecepatan 4.000 rpm dan didiamkan selama 24 jam. Residu yang diperoleh dicuci dengan air hingga pH netral yang kemudian dilakukan uji Cl⁻ dengan menggunakan larutan AgNO₃, residu keudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60 °C selama 2 jam. Asam humat yang didapatkan kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan FTIR dan dilakukan juga karakterisasi terhadap asam humat standar.

Pembuatan Kurva Standar Asam Humat (Cho and Lwin, 2012; Purmalis, 2010).

Larutan asam humat standar stok dibuat dengan konsentrasi 100 ppm dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL, selanjutnya dibuat larutan NaHCO₃ 0,05 M dalam labu ukur 50 mL dan NaOH 0,1 M dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya dengan variasi konsentrasi 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm ditambah 5 mL larutan NaHCO₃ 0,05 M dan 2,5 mL larutan NaOH 0,1 M. kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 200-800 nm dengan spektrofotometer uv-vis, pengukuran diulangi sebanyak tiga kali, kemudian dibuat kurva kalibrasi.

Larutan asam humat standar stok dibuat dengan konsentrasi 100 ppm dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL, selanjutnya dibuat larutan NaOH 0,1 M dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya dengan variasi konsentrasi 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm ditambahkan 2,5 mL larutan NaOH 0,1 M. Kemudian, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 200-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis. Pengukuran diulangi sebanyak tiga kali dan dibuat kurva kalibrasi.

Penetapan Kadar Sampel Asam Humat (Cho And Lwin, 2012; Purmalis, 2010).

Pertama-tama dibuat larutan sampel asam humat hasil isolasi sebanyak 0,1 gram dalam labu ukur 100 mL. diambil 1 mL sampel larutan asam humat tersebut lalu ditambahkan dengan 5 mL larutan NaHCO_3 0,05 M dan ditambahkan 2,5 mL larutan NaOH 0,1 M. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang 325 nm dengan menggunakan spektrofotometer ultra violet. Masing-masing pengukuran diulangi sebanyak tiga kali.

Pertama-tama dibuat larutan sampel asam humat hasil isolasi sebanyak 0,1 gram dalam labu ukur 100 mL. diambil 1 mL sampel larutan asam humat tersebut lalu ditambahkan 2,5 mL larutan NaOH 0,1 M. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang 325 nm dengan menggunakan spektrofotometer ultra violet. Masing-masing pengukuran diulangi sebanyak tiga kali.

Uji Statistik Kadar Asam Humat Dengan Penambahan NaHCO_3 dan Tanpa Penambahan NaHCO_3 (Kusnandar, 2004).

Hasil yang didapatkan kemudian dilakukan uji Paired t-tes dimana uji ini digunakan untuk membandingkan dua sampel yang berpasangan yaitu kadar asam humat dengan adanya penambahan NaHCO_3 dan tanpa penambahan NaHCO_3 , dengan tujuan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan dari dua sampel tersebut. Uji-t menyatakan H_0 adalah rata-rata populasi tidak berbeda signifikan dan H_1 adalah rata-rata populasi sangat berbeda signifikan. Dengan rumus sebagai berikut :

$$t = \frac{\bar{x}_a - \bar{x}_b}{s_p \sqrt{\frac{1}{n_a} + \frac{1}{n_b}}}$$

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_a-1)s_a^2 + (n_b-1)s_b^2}{n_a+n_b-2}}$$

Dimana :

\bar{x}_a = rata-rata nilai sampel A

\bar{x}_b = rata-rata nilai sampel B

s_p = standar deviasi

s_a = standar deviasi kelompok A

s_b = standar deviasi kelompok B

n_a/n_b = banyaknya sampel A dan sampel B

$Df = n_a+n_b-2$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Kurva Kalibrasi Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan menggunakan variasi konsentrasi larutan standar asam humat, dengan konsentrasi yang digunakan antara lain adalah 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm dan dibuat dua perbandingan larutan yaitu asam humat dengan penambahan NaOH dan $\text{NaOH}+\text{NaHCO}_3$. Masing-masing konsentrasi tersebut ditambahkan dengan larutan NaHCO_3 0,05 M dan larutan NaOH 0,1 M. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 200-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis. NaOH dan NaHCO_3 untuk meningkatkan kelarutan asam humat. Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk mentransfer elektron akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek.

Tabel 1. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Humat $\text{NaHCO}_3 + \text{NaOH}$ dan dengan yang Hanya NaOH

Konsentrasi (ppm)	Nilai Absorbansi	
	NaOH	$\text{NaHCO}_3+\text{NaOH}$
2	0,4576	0,3484
3	0,4533	0,4174
4	0,6534	0,5813
5	0,8445	0,7362
6	0,9212	0,8545
Persamaan garis	$0,1331x + 0,0551$	$0,1319x + 0,1384$
r	0,9933	0,9672

Hasil *scanning* didapatkan panjang gelombang maksimum dari larutan standar asam humat yang ditambahkan dengan $\text{NaHCO}_3 + \text{NaOH}$ 325 nm dan ditambahkan NaOH yaitu mendapatkan panjang gelombang maksimum yaitu 324 nm. Panjang gelombang tersebut merupakan daerah ultra violet dekat yaitu pada panjang gelombang 200-400 nm. Berdasarkan Gambar 4.2 didapatkan bahwa semakin besar konsentrasi asam humat maka semakin besar pula absorbansi dari asam humat tersebut, hal tersebut sesuai dengan hukum Lambert-Beer dimana besarnya penyerapan cahaya sebanding dengan jumlah molekul.

Tabel 4.2 didapatkan dua persamaan garis yaitu pada kurva kalibrasi dengan adanya penambahan NaHCO_3 dan NaOH nilai yaitu $y=0,1331x + 0,0551$, dengan $r^2 = 0,9867$ dan nilai $r=0,9933$. Sedangkan tanpa

penambahan NaHCO_3 $y=0,1319x + 0,1384$, dengan $r^2=0,9355$ dan $r=0,9672$, sehingga nilai koefisien korelasi tersebut telah memenuhi syarat $0,9 < r < 1$. Menurut Chan (2004) koefisien korelasi inilah yang digunakan untuk mengetahui linearitas suatu metode analisis. Penetapan linearitas minimum menggunakan lima konsentrasi yang berbeda yang menghasilkan korelasi yang linier pada setiap titik dalam garis lurus dalam suatu kurva kalibrasi.

Validasi Metode Penentuan Kadar Asam Humat dengan Spektrofotometri UV-Vis

Validasi metode analisis spektrofotometer uv-vis ini berdasarkan beberapa parameter uji antara lain akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi dan limit kuantisasi. Hasil dari beberapa parameter tersebut berdasarkan pengukuran larutan standar dengan NaOH dan NaOH+ NaHCO_3 dengan variasi konsentrasi dari 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm. Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penelitian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Parameter uji yang digunakan dalam penelitian ini antara lain uji akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi dan batas kuantitasi serta dilakukan uji-t untuk melihat dari kedua metode tersebut berbeda signifikan atau tidak. Tabel dibawah ini menunjukkan hasil validasi metode dengan spektrofotometri UV-Vis.

Tabel 2. Parameter-Parameter Validasi Metode Analisis Penentuan Kadar Asam Humat Dengan Penambahan NaOH dan Penambahan NaOH + NaHCO_3 dengan Spektrofotometri uv-vis

Parameter	NaOH	NaOH + NaHCO_3	Batas Penerimaan
Akurasi	0,4%-40%	2,0%-19,8%	20 %
	0,29%-13%	4,3%-17%	16 %
Presisi			
BD	1,6 ppm	0,7 ppm	-
BK	5,3 ppm	2,5 ppm	-
Linearitas	$y=$	$y=$	-
	0,1626x	0,1453x	

Berdasarkan tabel 4.2 diatas menunjukkan hasil dari metode validasi

analisis spektrofotometri uv-vis dengan menggunakan beberapa variasi konsentrasi dengan beberapa parameter uji, yang pertama yaitu akurasi. Akurasi adalah kedekatan hasil analisis yang didapatkan dengan kadar analit yang sebenarnya, dengan hasil yang didapatkan untuk lima variasi konsentrasi 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm yaitu tanpa penambahan NaHCO_3 dengan akurasi mulai dari 0,4%-40,6% dan dengan penambahan NaHCO_3 + NaOH nilai akurasi yaitu 2,0%-19,8%.

Menurut Sukorini, dkk (2010) nilai akurasi dapat diperoleh dengan menentukan nilai bias (e%), dimana semakin kecil nilai bias tersebut maka akurasi akan semakin baik atau tingkat akurasinya tinggi dengan nilai akurasi yang dapat diterima yaitu $\pm 20\%$. Dari dua hasil (tabel 4.2) terdapat nilai akurasi 40,6% pada 2 ppm dalam larutan standar asam humat tanpa NaHCO_3 , nilai akurasi ini melebihi nilai batas kriteria yang diterima. Hal ini terjadi karena adanya galat sistematis yang dapat mempengaruhi tingkat keakurasian dari pengukuran pada 2 ppm.

Hasil akurasi dan presisi pada konsentrasi larutan 2 ppm melebihi batas yang diterima yang terjadi karena adanya bias sistematis. Bias sistematis ini terjadi karena adanya kesalahan baik dari prosedur, proses maupun instrumen yang digunakan. Namun, untuk membuktikan bahwa hasil tersebut bisa digunakan atau tidak, perlu dilakukan uji pencilaan (uji *outlier*). Uji *outlier* dilakukan ketika data yang diperoleh secara nyata berbeda dengan data-data yang lain, dengan cara membandingkan nilai perhitungan yang didapatkan dengan tabel-Q. Hasil yang didapatkan setelah menghitung data pencilaan didapatkan bahwa pada konsentrasi larutan 2 ppm data *outlier* adalah lebih kecil dari tabel-Q yang berarti data tersebut tidak bisa dibuang. Sehingga pada penelitian ini dengan akurasi dan presisi yang melebihi batas diterima setelah dilakukan uji *outlier* menunjukkan kedua data tersebut tidak bisa dibuang.

Parameter uji yang kedua yaitu presisi, presisi merupakan ukuran kedekatan nilai data satu dengan yang lainnya dalam suatu pengukuran pada kondisi analisis yang sama yang ditentukan dengan parameter RSD. Nilai presisi dengan lima variasi konsentrasi dari hasil pengukuran tanpa penambahan NaHCO_3 yaitu 0,3%-

13% dan dengan penambahan $\text{NaHCO}_3 + \text{NaOH}$ yaitu 0,3%-17% (lampiran 4). Menurut Sukorini, dkk, (2010) nilai presisi yang baik yaitu dapat memenuhi batas kriteria KV Horwitz yaitu $\leq 16\%$ pada kadar satu per sejuta (ppm), dimana KV meningkat seiring dengan menurunnya konsentrasi analit, semakin kecil nilai KV semakin tingkat ketelitiannya. Nilai presisi yang tidak memenuhi kriteria KV Horwitz terdapat pada konsentrasi 2 ppm dalam larutan standar asam humat tanpa NaHCO_3 . Nilai akurasi dan presisi yang absah yaitu nilai akurasi dan presisi dengan hasil uji yang baik (Purwanto, dkk, 2010). Hasil akurasi dan presisi yang tidak baik pada konsentrasi 2 ppm dalam larutan standar asam humat tanpa NaHCO_3 , dimana hasilnya selalu melebihi batas kriteria yang ditentukan dan dapat disimpulkan bahwa nilai akurasi dapat mempengaruhi nilai presisi juga.

Parameter uji yang ketiga yaitu uji linearitas dengan variasi konsentrasi yang sama yaitu lima variasi konsentrasi berdasarkan pengukuran larutan standar dengan penambahan $\text{NaHCO}_3 + \text{NaOH}$ dan tanpa penambahan NaHCO_3 yaitu $y = 0,1626x$ dan $y = 0,1453x$. Nilai y tersebut didapatkan dengan menentukan batas kepercayaan nilai intersep pada batas kepercayaan 95%, $db = 3$ $t = 3,182$ dan $db = 4$ $t = 2,7765$ yang didapatkan yaitu -0,1314 sampai 0,4083 dan -0,0389 hingga 0,1493. nilai intersep tersebut melewati titik nol dapat menyebabkan kesalahan sistematis sehingga persamaan garis $y = bx + a$ tidak dapat digunakan.

Penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi adalah parameter validasi metode analisis yang terakhir yang ditentukan dalam penelitian ini dengan variasi konsentrasi berdasarkan pengukuran larutan standar dengan penambahan $\text{NaHCO}_3 + \text{NaOH}$ dan tanpa penambahan NaHCO_3 . Hasil yang didapatkan untuk batas deteksi yaitu 1,6ppm dan 0,7 ppm dan batas kuantitasi yaitu 5,3 ppm dan 2,5 ppm. Nilai batas deteksi merupakan nilai batas konsentrasi terendah dari analit yang masih dapat terdeteksi (Harmita, 2004). Sedangkan batas kuantisasi adalah jumlah terkecil dari analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi secara presisi dan akurasi (Harmita, 2004). Batas deteksi dan batas kuantitasi dihitung dari rerata kemiringan

garis dan simpangan baku intersep kurva standar yang diperoleh, dimana batas deteksi dan batas kuantitasi menunjukkan sensitifitas suatu metode jika batas deteksi dan kuantitasi yang didapatkan semakin kecil.

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel tanah gambut diambil di daerah Sepakat II Desa Bansir Laut Kecamatan Pontianak Tenggara Provinsi Kalimantan Barat pada tanggal 29 Agustus 2015. Pengambilan sampel tanah gambut basah diambil sebanyak 7,4 kg dari lapisan tanah paling atas kurang lebih 30 cm yang berwarna paling gelap yang menunjukkan kandungan senyawa organik yang tinggi. Menurut Biyanto, *et al* (2006) pada kedalaman tanah gambut 0,1-1,9 meter perolehan senyawa humat dengan menggunakan pelarut NaOH akan menghasilkan sekitar 6,0-13,0g/100g tanah.

Tanah gambut kemudian dibersihkan dari pengotor dan disaring untuk memisahkan pasir (Sudiono, 2004). Sampel tanah gambut kering dibersihkan dari sisa-sisa akar maupun tanaman, selanjutnya tanah gambut yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan mortal dan disaring dengan ayakan 40 mesh selanjutnya 125 mesh hal ini dilakukan agar padatan yang dihasilkan lebih halus dan mudah untuk diekstraksi dan diperoleh padatan tanah gambut.

Isolasi Asam Humat dari Tanah gambut

Isolasi dan pemurnian ini dengan tujuan untuk mendapatkan senyawa humat yang murni, bebas dari silikat, kation dan anion pengotor yang terdapat dalam tanah. Metode ekstraksi dengan basa alkali (NaOH) ini dipilih karena mendapatkan proses ekstraksi senyawa humat sebesar 80% (Purwanto, 1999). Isolasi asam humat dari tanah gambut dilakukan dalam beberapa tahap yaitu mulai dari ekstraksi dengan basa (NaOH), pengocokan dan penyaringan.

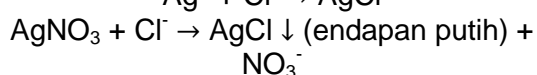
Asam humat dipisahkan dengan metode sentrifugse menggunakan prinsip pemisahan suatu molekul berdasarkan berat dari molekul tersebut, sehingga molekul yang lebih ringan akan berada diatas dan yang lebih berat akan berada dibawah. Menurut Sudiono (2004), Supernatan yang terkumpul dari sentrifuse pertama ini mengandung asam fulvat dan

asam humat, dan kedua senyawa asam ini dipisahkan dengan cara pengasaman, untuk mendapatkan asam humat dari larutan NaOH ini perlu ditambahkan HCl 6 M dan pengaturan pH hingga 1 sehingga asam humat akan menggumpal dan tidak larut, sedangkan asam fulvat tetap larut. Asam humat dikocok dengan shaker dengan tujuan untuk menghomogenkan larutan.

Pemurnian Asam Humat Hasil Isolasi

Pemurnian asam humat dilakukan dengan cara mengambil ekstrak kasar endapan asam humat hasil isolasi dimurnikan dengan melarutkan kedalam NaOH 0,1 M untuk memisahkan dengan senyawa humin yang terikat saat proses ekstraksi dan asam fulvat. Pencucian dengan HCl untuk menghilangkan pengotor anorganik maupun pengotor organik. karena proses ekstraksi dengan NaOH 0,1 M fraksi humin terpisah dari campuran sehingga mineral yang juga terikat pada humin terbuang oleh proses pemisahan asam humat dengan humin. Pemurnian ini dilakukan dengan tujuan agar asam humat yang diperoleh lebih murni, sedangkan penggunaan basa kembali ini untuk melarutkan asam humat. Pengendapan dalam larutan HCl pH=1 berulang untuk mengendapkan filtrat asam humat, hasil yang diperoleh kemudian dipisahkan antara residu dan filtrat untuk memastikan bahwa asam humat telah benar-benar terpisah dengan senyawa humat lainnya.

Residu diambil dicuci dengan air agar menyebabkan terjadinya pertukaran Na^+ larutan pengekraks dengan H^+ , pencucian ini dilakukan hingga pH netral (pH asam humat) sekitar 4-5 yang kemudian dilanjutkan dengan uji Cl^- dengan cara mereaksikan sedikit filtrat hasil pemurnian dengan larutan AgNO_3 sampai memberikan uji negatif terhadap Cl^- ditandai dengan adanya endapan putih didalam larutan. Uji Cl^- tersebut dikatakan netral apabila filtrat yang didapat bening sampai tidak adanya endapan putih dalam filtrat tersebut, residu hasil pencucian ini sebanyak 15,683 gram. Reaksi antara AgNO_3 dan Cl^- adalah sebagai berikut :

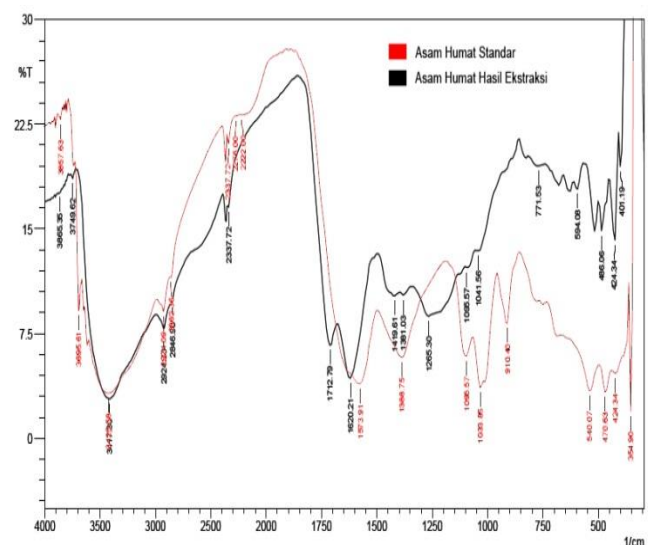


Residu tersebut dikeringkan dengan oven pada suhu 40 °C diperoleh padatan

asam humat murni sebanyak sekitar 2,1 % dari selisih hasil asam humat isolasi dan asam humat yang sebenarnya.

Karakterisasi Asam Humat Hasil Pemurnian dengan Menggunakan FTIR

Asam humat yang didapatkan kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan FTIR dan dilakukan juga karakterisasi terhadap asam humat standar. FTIR dapat mengidentifikasi gugus-gugus fungsional suatu senyawa. Pada karakterisasi senyawa asam humat sering digunakan metode FTIR untuk mengetahui gugus-gugus fungsional yang terkandung dalam asam humat. Menurut Stevenson (1994), senyawa humat memiliki gugus fungsional utama seperti $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, kuinon, aromatik, dan alifatik. Spektra IR asam humat hasil isolasi dan asam humat Stevenson dapat dilihat pada Gambar berikut:



Gambar 1. Spektrum asam humat hasil pemurnian dan asam humat standar

Berdasarkan hasil spektrum IR (Gambar 1) muncul asam humat dari spektrum asam humat hasil isolasi, asam humat standar dan asam menurut stevenson. Menurut Stevenson (1994) yaitu munculnya puncak-puncak yang karakteristik pada beberapa bilangan gelombang 3400, 2900, 1720, 1620 dan 1200 cm^{-1} . Asam humat standar dan asam humat hasil isolasi menunjukkan pita serapan yang mewakili karakteristik yang mirip menurut Stevenson. Namun, tidak semua puncak dari asam humat standar, asam

humat hasil isolasi dan asam humat menurut Stevenson (1994), yang diperoleh sama, perbedaan hasil yang didapatkan disebabkan oleh perbedaan tempat pengambilan tanah gambut yang berbeda akan menghasilkan asam humat yang berbeda pula. Bahan organik dalam tanah gambut memiliki perbedaan tingkat dekomposisi sehingga akan menghasilkan karakteristik asam humat yang berbeda pula, dimana tingkat dekomposisi ini berhubungan dengan kedalaman dari tanah gambut semakin dalam tanah gambut maka tingkat kondensasi aromatik semakin besar, dengan demikian asam humat hasil isolasi dari sumber yang berbeda menunjukkan karakteristik yang berbeda (Stevenson, 1994; Gondar et al, 2004).

Penentuan Kadar Asam Humat dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Pengukuran kadar asam humat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis dengan variasi konsentrasi berdasarkan pengukuran larutan standar dengan penambahan NaHCO_3 + NaOH dan tanpa penambahan NaHCO_3 . Pengujian kedua perlakuan tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan uji-t, dimana uji-t dapat dilakukan terhadap dua sampel yang berpasangan yaitu sampel dengan subjek yang sama tetapi mendapatkan dua perlakuan atau pengukuran yang berbeda (Aldinomera, 2014).

Pengukuran kadar asam humat dilakukan dengan membuat sampel asam humat, selanjutnya diukur absorbansi dengan melakukan *scanning* terhadap larutan standar asam humat sehingga diperoleh panjang gelombang maksimum dan absorbansinya, pada masing-masing sampel dengan lima variasi konsentrasi yang dilakukan secara triplo dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum tersebut. Pengulangan yang dilakukan dengan membuat larutan uji dari awal perlakuan hingga memvalidasi metode analisis yang akan digunakan. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 324 nm dengan rata-rata absorbansi 0,1794 dan 0,5235, dengan menggunakan persamaan regresi $y = 0,1626x$ dan $y = 0,1453x$ dan konsentrasi asam humat yaitu 5,5 ppm dan 2,0 ppm.

Uji t dibuat dengan merumuskan hipotesa yaitu H_0 dan H_1 , dimana H_0 adalah rata-rata kedua populasi tidak berbeda signifikan sedangkan H_1 adalah rata-rata kedua populasi berbeda signifikan. Hasil yang didapatkan dari uji t tabel menunjukkan bahwa nilai $t_{hitung} > t_{tabel}$ sehingga dapat dikatakan bahwa hipotesa nol ditolak untuk penentuan kadar asam humat dengan penambahan $\text{NaHCO}_3 + \text{NaOH}$ dan tanpa penambahan NaHCO_3 diterima.

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh hasil penelitian yang menunjukkan hasil validasi metode analisis yang memenuhi batas kriteria sesuai dengan parameter uji akurasi, presisi, batas deteksi, batas kuantitasi dan linieritas. Hasil spektrum FTIR didapatkan karakter yang mirip dengan yang telah dilakukan Stevenson munculnya daerah serapan pada bilangan gelombang 3400, 2900, 1720, 1620 dan 1200 cm^{-1} dan Hasil Penentuan kadar sampel asam humat setelah dilakukan validasi metode dengan menggunakan beberapa parameter uji menunjukkan bahwa asam humat dengan penambahan $\text{NaHCO}_3 + \text{NaOH}$ lebih memenuhi batas uji validasi dengan kadar yang didapatkan yaitu 5,5 ppm.

Daftar Pustaka

- Aldinomera, R., Destiarti, L., Ardiningsih, P., 2014, Penentuan Kadar Timbal (II) pada Air Sungai Kapuas Secara Spektrofotometri Ultra Violet-Visible, *J. Kimia Khatulistiwa*, 3 (1):3-6.
- Biyantoro, D., Subagiono, R., dan Sumarsono M., 2006, Watak Senyawa Humik yang diekstrak dari Gambut dan Andisol Dengan Metil-Isobutil Keton (MIBK), Di dalam : *Prosiding PPI*, 10 juli 2006, DPIPTN, BATAN
- Chan, C.C., Lam, H., Lee, Y.C. and Zhang, 2004, *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*, John Wiley and Sons, Canada.
- Cho, K.T., and Lwin, M.Z., 2012, Study On The Analysis Nitrohumic Acids From Two Different Rank Myanmar Coal By Ultraviolet Spectroscopy, Di Dalam: *proceedings at the International Conference on*

- Chemical Processes and Environmental Issues* (ICCEEI), Singapore, 15-16 juli 2012, Mandalay Technological University, Mandalay.
- Gaffney, J.S., Marley, N.A. and Clack, S.B., 1996, Humic and Fulvic Acid: Isolation, structure and environmental role, *American Chemical Society*, 20 (1): 2-16.
- Hahne, R. M. A., 2002, *Fundamentals of Industrial Hygiene*, Fifth Edition, National Safety council, New York.
- Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metoda dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1 (3): 118-121.
- International Conference on Harmonization (ICH), 2005, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1), *European Medicines Agency*, 71 (1): 1-15
- Kusnandar, D., 2004, *Metode Statistik dan Aplikasinya dengan Minitab dan Excel*. Madyan Press. Yogyakarta.
- Mulja, M. dan Suharman, 1995, *Analisis Instrumenta*, Universitas Airlangga Press, Surabaya.
- Purmalis, O. and Klavins, M., 2013, Comparative Study Of Peat Humic Acids By Using UV Spectroscopy, Di Dalam: *Proceedings at the 1st Annual International Interdisciplinary Conference* (AIIC); Portugal, 24-26 April, University of Latvia, Latvia.
- Purwanto, A., Muzakky, dan Supriyanto, C., 1999, Evaluasi Logam Alkali Dan Alkali Tanah Dalam Asam Humat Hasil Isolasi Tanah Gambut, Di Dalam : *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah*; Yogyakarta 14-15 1999, P3TM BATAN, BATAN.
- Skoog, D.A., Holler, F.J. and Neiman, T.A., 1998, *Principle of Instrumental Analysis*, Fifth Edition, Soundres College Publishing, USA.
- Stevenson, F.J., 1994, *Humic Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*, John Wiley and Sons, New York.
- Sudiono, S. and Santosa, S.J., 2004, Determination of Rate Constant and Stability of Adsorption In Competitive Adsorption of Cr (III) and Cd(II) on Humic Acid by Using the New Model of Kinetic Formulation, *Kimindo*, 2 (2): 85 – 92.
- Sukorini, U., Nugroho, D.K., Rizki, M dan Hendrawan, P.J.B, 2010, Pemantapan Mutu Internal Laboratorium Klinik, Kenalmedika dan Alfamedia, Yogyakarta.
- Suyanta, Sudiono, S., dan Santoso, S.J., 2004, Penentuan Konstanta Laju dan Stabilitas Adsorpsi Salam Adsorpsi Kompetitif Cr (III) dan Cd (II) pada Asam Humut dengan Rumusan Kinetika Model Baru, *J. Indonesian of Chemistry*, 4 (3) 161-167.